

Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Fitomejoramiento
Tema estratégico (ANA/PEP):	Generación de tecnologías de conservación de la diversidad genética de especies nativas de los agroecosistemas tradicionales de México: conservación <i>in situ</i> y <i>ex situ</i> / Recuperación de la Biodiversidad, Tema transversal de la Agenda Nacional 2017.				
Línea de investigación:	Poscosecha de semillas				
Título del proyecto:	Predicción de la Humedad en Equilibrio y Deterioro en Semillas de Especies de Zonas Áridas y Semiáridas				
Presupuesto solicitado (Máximo \$75,000)	\$75,000.00	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	<input checked="" type="checkbox"/>
Tipo de investigación:	Básica	<input checked="" type="checkbox"/>	Aplicada	<input checked="" type="checkbox"/>	Tecnológica
e-mail del responsable	marioe.vazquez@uaaan.mx				
Vinculación:	<input checked="" type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	Fondos concurrentes:		
Cooperante(s):	CONAFOR, SEMA, CNRG				
Entidad (es):	Coahuila	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo, Arteaga, General Cepeda, Parras, Viesca, Torreón, Sabinas.				
A realizar durante el año(s):	2017-2019				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo	3615	3268		
Colaborador:	Dr. Celestino Flores López	3613	3126		
Colaborador:	Dr. M. Humberto Reyes Valdés	3615	2174		
Colaborador:	Dra. Esmeralda Judith Cruz Gutiérrez	CNRG-INIFAP	CNRG-INIFAP		
Colaborador:	Dr. Dino Ulises González Uribe	0901	3170		
Colaborador:					
		Grado por obtener	Matrícula	Firma	
Tesista:	Adriana Antonio Bautista	Doctorado	61030782		
Programa Docente:	Doctorado en Ciencias en Recursos Fitogenéticos para Zonas Áridas				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
	Vo. Bo.		Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Alfonso López Benítez		Dr. Armando Robledo Olivo		
	Jefe del Departamento de Fitomejoramiento		Subdirector de Programación y Evaluación		

FITOMEJORAMIENTO

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Predicción de la Humedad en Equilibrio y Deterioro en Semillas de Especies de Zonas Áridas y Semiáridas	\$75,000.00
---------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------

2.- Introducción

Más de la mitad del territorio nacional está ocupado por recursos vegetales de zonas áridas y semiáridas (Dávila et al., 2002; Flores-Villela y Geréz, 1994), esto representa al menos 100 millones de hectáreas, en las cuales se desarrollan diez tipos distintos de matorrales xerófilos, así como una gran variedad de pastizales y vegetación halófila (Rzedowski, 1993). Además, como sucede en gran parte del territorio mexicano, en estas regiones se encuentra una gran riqueza de especies y una gran cantidad de endemismos. Las formas de vida y los patrones de diversificación de muchos grupos taxonómicos que se originaron en otras regiones, alcanzan sus máximos niveles de diversidad, abundancia e importancia en las regiones secas (Dávila et al., 2002; Dávila y Herrera-MacBryde, 1997).

Los bancos de semillas son indispensables en ambientes semiáridos por ser la vía principal de regeneración para las comunidades vegetales en estos ecosistemas. El banco de semillas y sus características de regeneración varían entre las especies, además que se considera como una estructura, que se establece dentro de una estrategia global de conservación de recursos genéticos, y cuyos objetivos son los propios de la conservación genética y la disponibilidad de semilla para satisfacer la demanda necesaria, semilla que debe de almacenarse y conservarse sin que pierda sus atributos de calidad (genética, física, fisiológica y sanitaria), es por ello que estos centros deben ser considerados parte fundamental en la conservación de semillas hasta el momento de su utilización. Las semillas almacenadas están sujetas a diversos cambios uno de ellos es la pérdida de la calidad fisiológica lo que ocasiona su deterioro, sin embargo cuando el almacenamiento es llevado a cabo bajo condiciones favorables se pueden almacenar por largos períodos sin que presente éste problema, los factores más importantes que afectan el almacenamiento de semillas son la humedad relativa, la temperatura y la condición de la semilla.

Semillas con niveles seguros de humedad para su almacenamiento tendrá bajos o insignificantes problemas, la humedad del ambiente (humedad relativa) y la temperatura influyen en el contenido de humedad. El contenido de humedad y la temperatura presenta una correlación negativa con la longevidad de la semilla.

El conocimiento de la humedad en equilibrio de las semillas bajo diferentes condiciones ambientales, permite establecer los tiempos de almacenamiento seguro durante un tiempo determinado. El Contenido de Humedad de Equilibrio (CHE) es el contenido de humedad que un producto alcanza, cuando se deja durante un tiempo suficientemente bajo condiciones de temperatura y humedad del aire. La palabra equilibrio se refiere a que el producto no intercambia humedad con el aire que lo rodea. El CHE es de gran importancia en el proceso de secado, procesamiento y almacenamiento semillas.

Actualmente México cuenta con 37 bancos de germoplasma forestal (BGF) para almacenamiento de semillas a mediano plazo y 17 centros de almacenamiento temporal de germoplasma forestal (CATGF), mismos que en conjunto tienen una capacidad de almacenamiento de 235 toneladas (FAO-CONAFOR, 2011), 28 de éstos Bancos corresponden la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), los cuales 10 de ellos resguardan semillas de especies de zonas áridas sin embargo, el personal técnico de estos centros no cuentan con la información necesaria para el manejo de condiciones básicas de almacenamiento, ya que todos estos bancos resguardan una gran diversidad de especies (hasta 52), lo

que dificultan aún más establecer estándares de almacenamiento sin que se vea afectada la calidad de dichas especies, lo que ocasiona pérdidas superiores a las 10 ton anuales por causas bióticas y abióticas.

Tomando en consideración la importancia biológica de las zonas áridas y semiáridas, su rápido deterioro y la fragilidad de sus comunidades, es definitivamente indispensable continuar con las actividades de conservación ex situ del germoplasma

Por lo anterior, el presente proyecto de investigación tiene como finalidad la generación de herramientas predictivas de humedad en equilibrio para que se pueda dar un mejor manejo de semillas durante su proceso de acondicionamiento y almacenamiento de contribuir a la reducción de pérdidas cualitativas y cuantitativas en los bancos de semilla.

Objetivos

- Estimar y analizar los parámetros para predecir la humedad en equilibrio y su relación con el deterioro para su clasificación en longevidad en semillas forestales de zonas áridas y semiáridas de México.
- Establecer un modelo estadístico para la predicción de la humedad en equilibrio en semillas forestales almacenadas bajo diferentes condiciones ambientales
- Elaborar tablas de humedad en equilibrio de acuerdo a temperaturas en semillas forestales de zonas áridas y semiáridas de México

Hipótesis

- Existen al menos dos parámetros que ayuden a predecir la humedad en equilibrio de la semilla y la longevidad en semillas forestales de zonas áridas y semiáridas de México.

3. Revisión de Literatura

La diversidad genética proporciona la base fundamental para la evolución de las especies arbóreas forestales. Esta diversidad ha permitido que los bosques y los árboles se adapten a condiciones cambiantes y adversas durante miles de años y ha traído como resultado una variedad única e insustituible de recursos genéticos de los árboles forestales. No obstante, la gran mayoría de la diversidad genética forestal permanece desconocido (Challenger y Soberón, 2008).

México es un país cuyo territorio presenta extensas zonas áridas, semiáridas y muy áridas, que representan el 54.3% de la superficie total. Aunque existen pequeñas zonas áridas repartidas por todo el país, como producto de las condiciones climáticas locales, la mayor extensión de zonas áridas en México según Mosiño (1983) se ubica en el cinturón o faja mundial de aridez, que en el país corresponde a los desiertos Chihuahuense y Sonorense; este último se extiende a la casi totalidad de la península de Baja California y partes bajas del estado de Sonora. La conservación estática se aplica también para conservar lotes de semillas en bancos de germoplasma, en los que se mantiene la semilla almacenada en cuartos fríos de conservación o en condiciones favorables. La gran mayoría de los bancos tienen semillas que sólo pueden mantener una alta tasa de germinación durante un número relativamente reducido de años, en comparación con el tiempo de vida del árbol vivo, mientras que los lotes de semilla tienen que regenerarse cada cierto tiempo (FAO, 2007), manteniendo y monitoreando los factores que afectan la calidad de la semilla como son la madurez de la semilla, viabilidad inicial, naturaleza de la testa y el método de procesamiento, almacenamiento y conservación de semillas (Patiño *et al.*, 1983), para evitar su deterioro, el cual es irreversible e inexorable y varía entre y dentro

de especies (Moreno *et al.*, 2000).

La condición física y fisiológica de las semillas influye enormemente en su vida útil. Las semillas quebradas o daño mecánico se deterioran más rápidamente que las semillas intactas. Incluso en ausencia de síntomas físicos, las semillas pueden ser fisiológicamente ser susceptibles a un rápido deterioro. Algunos factores ambientales durante el desarrollo de la semilla, y antes de su madurez fisiológica pueden afectar la longevidad de las semillas, por ejemplo, la deficiencia de minerales (N, K, Ca), de agua y temperaturas extremas. En un principio, la capacidad de germinación también está influenciada por la vida útil de la semilla, aunque esto puede estar relacionado con un síntoma o un daño fisiológico.

Entre los factores externos y más importantes que influyen en la longevidad de la semilla son la humedad y temperatura del ambiente. El efecto de la humedad relativa (y su efecto subsecuente sobre la humedad de la semilla) y la temperatura que rodea a la semilla son altamente interdependientes.

La mayor parte de semillas pierden su viabilidad rápidamente en humedades relativas próximas al 80% y a temperaturas de 25 a 30°C, pero pueden ser conservadas por diez años o más en humedades relativas de 50% o menos y a temperaturas de 5°C o menos (Doran *et al* 1987). Según Harrington (1973), la suma del porcentaje de humedad relativa y la temperatura en °F no debe exceder las 100 unidades para un buen almacenamiento.

Algunas especies de semillas son genética y químicamente equipados para tener una larga estabilidad de almacenaje que otras en condiciones similares. La mayoría de las semillas de larga vida pertenecen a las especies de cubierta dura o semillas con una epidermis impermeable (Trujillo 1994).

Entre los factores bióticos más importantes se encuentran los insectos y los hongos, Existen dos tipos de hongos que invaden las semillas: 1. **Los hongos de campo** infectan las semillas que se desarrollan en la planta madre y típicamente requieren de alta humedad relativa (90-95%) o alto contenido de humedad en la semilla (30-35%), ya que estas condiciones ocurren durante la maduración de la semilla, estos hongos raramente contribuyen al deterioro de la semilla durante el almacenaje. 2. **Los hongos de almacén** tienen la capacidad de crecer sin el agua libre. En general ellos crecen en contenidos de humedad de la semilla en equilibrio con humedades relativas de 65 a 90%. La temperatura óptima para el crecimiento de los hongos es de 27 a 33°C, con un máximo de 55°C y un mínimo de 0°C. En el caso de los insectos, el factor limitante para su desarrollo es la temperatura, ya que su óptimo es de 27°C. Mientras que las temperaturas mínimas y máximas para su desarrollo es de 15 y 45°C respectivamente (Moreno 1988).

Al igual que el contenido de humedad, la temperatura presenta una correlación negativa con la longevidad de la semilla; cuanto más baja es la temperatura, menor es la tasa de respiración y la longevidad de la semilla se prolonga.

El conocimiento de la humedad de equilibrio de semillas bajo diferentes condiciones ambientales, permitirá establecer los tiempos de almacenamiento seguro durante un tiempo preestablecido, mientras que el contenido de humedad de equilibrio (CHE) es el contenido de humedad que un producto alcanza cuando se deja durante un tiempo suficientemente largo en determinadas condiciones de temperatura y humedad del aire. La palabra equilibrio se refiere a que el producto no intercambia humedad con el aire que lo rodea. En 1929, Hibbard y Miller publicaron la primera fórmula para predecir el efecto de temperatura en cualquier humedad relativa en la semilla almacenada (Justice y Bass, 1979).

Roa (1974) desarrolló una ecuación empírica con nueve parámetros, estos parámetros fueron obtenidos mediante regresión no lineal. Esta ecuación relaciona la temperatura, la humedad relativa del aire y la humedad de equilibrio del producto.

Actualmente México cuenta con 37 bancos de germoplasma forestal (BGF) para almacenamiento de semillas a mediano plazo y 17 centros de almacenamiento temporal de germoplasma forestal (CATGF), mismos que en conjunto tienen una capacidad de almacenamiento de 235 toneladas (FAO-

CONAFOR, 2011), sin embargo, el personal técnico de estos centros no cuentan con la información necesaria para el manejo de condiciones básicas de almacenamiento, ya que todos estos bancos resguardan una gran diversidad de especies (hasta 52), lo que dificultan aún más establecer estándares de almacenamiento sin que se vea afectada la calidad de dichas especies, es por ello que el presente proyecto pretende contribuir en la disminución de las pérdidas de semilla en la conservación y almacenamiento.

4.- Procedimiento Experimental

Como primera etapa se colectaron y se obtuvo la semilla de las nueve especies de climas áridos y semiáridos (Cuadro 1), en el Estado de Coahuila en los municipios y localidades donde se distribuyen las especies (Fig. 1)

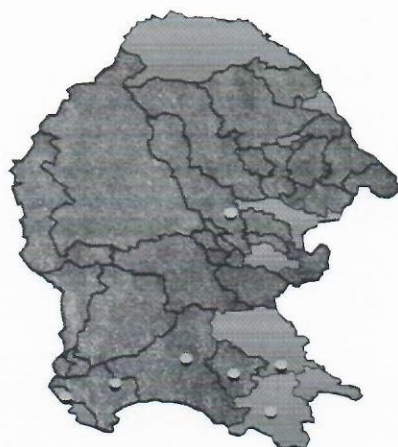


Figura 1.- Municipios de recolección de germoplasma

Cuadro No1. Lista de especies a trabajar.

No.	Nombre Científico	Nombre Común
1	<i>Prosopis laevigata</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	Mezquite
2	<i>Dasyllirion cedrosanum</i> Trel.	Sotol
3	<i>Agave lechuguilla</i> Torr.	Lechuguilla
4	<i>Atriplex canescens</i> (Pursh) Nutt.	Costilla de vaca
5	<i>Nolina cespitifera</i> Trel.	Cortadillo
6	<i>Yucca filifera</i> Chabaud	Palma china
7	<i>Lippia graveolens</i> Kunth	Orégano
8	<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd	Huizache
9	<i>Cordia boissieri</i> A. DC	Anacahuita

Etapa de Almacenamiento y evaluación de germoplasma. Se realizará en el laboratorio de almacenamiento de semillas del Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas (CCDTS) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

Tratamientos:

HR (%)	Sales sobresaturadas	T°C	Tiempo de Almacenamiento (Días)
60	Glucosa	5	0
75	NaCl	10	15
80	KCl	15	30
85	(NH ₄) ₂ SO ₄	20	60
		30	90
		40	

Winston and Bates (1960).

Las soluciones de sales sobresaturadas se pondrán en contenedores, las cuales se colocarán recipientes con muestras de 100 semillas por repetición, HR, T°C y tiempo de almacenamiento, estos se sellarán y se llevarán a las cámaras con las temperaturas controladas, donde permanecerán hasta el día de su evaluación.

Parámetros a evaluar en semillas:

Calidad Física:

Peso específico peso en base a volumen

Se realizarán cuatro repeticiones por cada especie a través de la balanza volumétrica y se reportará en kg/cm³.

Descripción de forma tridimensional, textura, contornos o formas planas y el tamaño de semilla.

Se realizará según el catálogo de Murley, 1951 adaptado por Davis en 1993.

Contenido de humedad. Método de secado (ISTA, 2004). Se tomarán muestras por especie y se pondrán en cajas de aluminio previamente pesadas y se colocarán en estufa a 103°C por 16 ± 1hr. Transcurrido el tiempo de secado, las cajas se retirarán de la estufa y se pondrá en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente, se pesarán nuevamente la semilla seca y por diferencias de peso fresco con peso seco, se obtendrá el % de humedad de las semillas.

Calidad Fisiológica:

Prueba de germinación. Se utilizarán 4 repeticiones de 25 semillas por cada especie de semillas. Estas muestras se pondrán sobre sustrato humedecido, esto podrá ser sobre o entre papel, o peat moss para ser colocados en la cámara de germinación a 20-25°C., por 28 días, al final se hará un conteo de plántulas normales, anormales y semillas sin germinar, presentando los resultados en porcentaje (ISTA, 2004).

Longitud de plúmula y radícula:

Se tomarán las plántulas normales de la prueba de germinación de cada repetición y se medirán desde el cuello de la raíz hacia arriba para la longitud de plúmula y de la raíz hacia abajo para la longitud de radícula y se reportará en centímetros.

Peso seco de plántula

Para determinar esta variable, se tomarán las plántulas normales de la prueba de germinación de cada repetición, se eliminaron los restos de las semillas para obtener solo la plántula, estas serán colocadas en bolsas de papel estraza perforados e identificados con anterioridad. Posteriormente se meterán a la estufa de secado a una temperatura de 65°C por un periodo de 24 horas. Al finalizar este tiempo, las muestras serán puestas en el desecador para su enfriamiento, para luego pesarse en una balanza analítica. Por diferencia de peso se obtuvo el peso seco, será expresado en miligramos por plántula (mg/plántula).

Calidad Sanitaria: Se realizará mediante el uso de medios de cultivo MSA, para determinar hongos de almacén. Las semillas se desinfectarán con hipoclorito de sodio al 2% por 2 minutos, se pondrán tres repeticiones de 10 semillas, posteriormente se sembrará en el medio y se incubará a 27°C por 7 días. Después se evaluará las semillas libres de patógenos y semilla invadida por hongos por género y especie.

Composición química de semillas

Se realizará un análisis bromatológico, para obtener la composición química básica de las semillas en estudio, siguiendo los análisis proximales de Weende.

Diseño Experimental. Se empleará un diseño completamente al azar con arreglo factorial por especie de semilla. Factor A. HR, Factor B. T°C, Factor C. Tiempo. Comparación de medias de Tukey a $P \leq 0.05$.

Dada la importancia que tienen los datos de contenido de humedad en equilibrio, se han obtenido ecuaciones o modelos empíricos en función de la temperatura y la humedad relativa del aire que está en contacto con el producto. Roa (1974) desarrolló una ecuación empírica con nueve parámetros, Estos parámetros fueron obtenidos mediante regresión no lineal. Esta ecuación relaciona la temperatura, la humedad relativa del aire y la humedad de equilibrio del producto. Para el presente estudio se tiene contemplado establecer un modelo matemático para la predecir la humedad en equilibrio en semillas forestales a través de la adecuación de la Ecuación de Roa.

$$Meq = (p_1 HR + p_2 HR^2 + p_3 HR^3) \exp((q_0 + q_1 HR + q_2 HR^2 + q_3 HR^3 + q_4 HR^4) + (Tq_5))$$

En donde:

HR= Humedad Relativa del aire (decimal).

T= Temperatura del aire (°C).

Meq= Contenido de Humedad de Equilibrio (decimal b.s.)

$p_1, p_2, p_3, q_1, q_2, q_3, q_4$ y q_5 =Constantes para cada producto.

Se utilizarán métodos de aprendizaje de máquinas para valorar el modelo de Roa (1974) y compararlo con otras metodologías que pueden resultar menos paramétricas y más robustas. Una vez definidos los parámetros críticos, se buscará hacer su predicción con base en variables morfológicas y fisiológicas de la semilla. La modelación y evaluación se llevará a cabo en el lenguaje y ambiente de computo estadístico R (R Core Team, 2017).

Cronograma de actividades.

Actividades (2018)	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Revisión de literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Evaluación inicial											X	X
Almacenamiento	X	X	X	X	X	X	X	X				
Evaluación de Humedad	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Evaluación de parámetros de calidad	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Análisis de resultados y concentración de datos					X	X	X	X	X	X		
Modelaje Estadístico					X	X	X	X	X	X	X	
Estancia Académica						X	X					
Actividad a realizar (2019)	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Análisis de resultados y concentración de datos	X	X	X	X								
Modelaje Estadístico	X	X	X	X								
Escritura de tesis			X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Presentación del proyecto en congresos											X	X
Publicación de un artículo científico	X							X				
Presentación del examen de grado											X	

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Evaluación inicial		15,000.00										
Almacenamiento		20,000.00										
Evaluación de Humedad			5,000.00									
Evaluación de parámetros de calidad				5,000.00								
Análisis de resultados y concentración de datos										5,000.00		
Modelaje Estadístico											5,000.00	
Estancia Académica						20,000.00						

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2017	Año estimado de conclusión	2019
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos esperados

Generación de modelos predictivos para almacenamiento y conservación de semillas forestales de zonas áridas y semiáridas
 Dos artículos científico publicados en revista indizada
 Presentación de ponencia en congreso nacional o internacional
 Tesis doctoral
 Tesis de licenciatura

6.-Literatura citada

- Challenger, A. y J. Soberón. 2008. Los ecosistemas terrestres. *En*: Capital Natural de México, Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO, México. 1:87-108.
- Dávila, P., M. Coro Arizmendi, A. Valiente-Banuet, J. L. Villaseñor, A. Casas y R. Lira. 2002. Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation* 11: 421-442.8
- Dávila, P. y O. Herrera-MacBryde. 1997. Tehuacan-Cuicatlán Region, México. In: Davis, S.D., V.H. Heywood, O. Herrera-MacBryde, J. Villalobos y A. C. Hamilton (eds.). *Centres of Plant Diversity: A guide*
- DORAN, J.C.; TURNBULL, J.W.; FARIUKE; E.H. 1987. Effects of Sotorage Experiment. Conditions on Germination Op Five. *Tropical Forest Seed Problema In Africa. Sug 23 -Sep 2. pp339*
- FAO, FLD, Biodiversity International. 2007. Conservación y manejo de recursos genéticos forestales. Visión general, conceptos y algunos métodos sistemáticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia. Vol. 1: 111p
- FAO-CONAFOR, 2011. Situación de los Recursos Genéticos Forestales en México. Informe Final del proyecto TCP/MEX/3301/MEX (4)
- Flores-Villela, O. y Geréz P. 1994. Biodiversidad y Conservación en México: Vertebrados, Vegetación y Uso de Suelo. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Harrington, J. F. 1973. Problems of seed storage. In: Heydecker. W. *Seed ecology*. Butterworth and Co. Ltd. England. pp 251- 263.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2004. *International Rules for Seed Testing*. Seed Sci. and Technol. P.O BOX 308, 8303 Basserdorf, CH-Switzerland, ISBN 3-906549-38-0. Edition 2004/1:700 copies
- Justice, O.L. y Bass, L.N. 1979. *Principles and practices of seed storage* Castle House Publications Ltd.
- Mosiño A., P. A. 1983. "Climatología de las zonas áridas y semiáridas de México". Recursos agrícolas de zonas áridas y semiáridas de México, Memoria de Simposio. Colegio de Posgraduados. Chapingo, Estado de México, Pp. 9-38.
- Moreno, M.E. 1988. *Manual para la identificación de hongos en granos y sus derivados*. UNAM. México. 109p
- Moreno, M.E., M.E. Vázquez B. y F. Facio P. 2000. La Temperatura en Relación con la Longevidad de la semilla de Maíz Almacenada con Baja Humedad. *Agrociencia*. México. 34(2):175.179.
- Patiño, V.F., P. De la Garza L., Y. Villagómez A., I. Talavera A. y F. Camacho M. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales. *Bol. Div. Inst. Nal. Invest. For. México*. 63: 181.
- Rzedowski, J. 1993. Diversity and Origins of the Phanerogamic Flora of Mexico. In: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.). *Biological Biodiversity of Mexico. Origins and Distribution*. Oxford University Press.

ROA, G. 1974. Natural Drying of Cassava. Thesis PhD. Michigan University. Pp. Toole, E. H. 1957. Storage of vegetables seeds. U. S. Department of Agriculture Leaflet 220.

Trujillo N. E. 1994. Resultados preliminares de almacenamiento de semillas de 52 especies forestales. Boletín de Semillas y Mejoramiento Genético Forestal. No. 7 PROSEFOR-CATIE. Turrialba, Costa Rica. 7-8 p.

Winston y Bates, 1960: Saturated Solutions for the control of humidity in biological research. Ecology Vol 41 No.1 pp 232-237.